

血管束移植における血管周囲組織の循環に関する研究

金沢大学医学部整形外科科学講座 (主任: 野村 進教授)

米 澤 幸 平

(昭和63年12月19日受付)

血管束移植術は乏血組織の血行状態改善を主な目的として臨床に用いられているが、血管束自体の作製方法や作製後の血行動態については不明な点も多い。今回家兎の伏在動静脈を用いて血管束移植術のモデルを作成し、血管束作製時の血管束内の血管周囲組織の重要性と血管束先端の結紮の影響を微小血管造影法と組織学的手法にて検討した。その結果、血管周囲組織内に存在する微小循環系が血管束内の血管本幹の開存性の維持に必須で、血管周囲組織が存在すれば結紮の影響はないことがわかった。吸入式水素クリアランス法にて血管束の血管周囲組織の血流量を測定した結果、先端結紮を施行した術直後においては血管周囲組織の血流が有意に減少するものの、正常の56% ($40.1 \pm 16.8 \text{ ml/min/100g}$) の血流量が残存し、動脈の近位部の結紮切離の追加によってこの血流は消失した。よって、血管束内に存在する血管周囲組織の循環は血管本幹經由にて維持されていることが直接的に証明され、逆に血管周囲組織の循環が血管本幹の開存に役立っていることが明らかとなった。

Key words vascular bundle transplantation, perivascular tissue, circulation, capillary proliferation, wound healing

動脈のみあるいは動静脈血管束を乏血状態に陥った組織内に移植して血行改善をはかる試みは、1946年 Vineberg¹⁾ が内胸動脈を心筋内へ移植したのををもって嚆矢とする。その後、骨組織に対しても同様の目的で実験的試み^{2)~7)9)}や、臨床的に Kienböck 病^{8)~10)}や大腿骨頭壊死⁷⁾¹¹⁾などの壊死骨の血行改善を目的として応用されてきた。以上のように乏血組織に対する血管束移植術の効果は実験的にも臨床的にもある程度研究されているが、血管束自体の循環に関する研究はなされていない。血管束の作製時には、血管束の先端を結紮して血管束本幹と末梢との連絡を断ち、しかも動静脈の周囲を剥離して血管と周辺組織との連絡も断つため、血管束の血行状態はきわめて非生理学的状況に追い込まれ、血管本幹の開存性も損なわれる可能性がある。

この際、血管の周囲に軟部組織を付着させるか否か、また付着させる場合、これが先端を結紮した血管束自体の循環にどのような影響を及ぼすかについては未だ明確な研究がなされていない。

そこで、本研究では、動物実験にて血管束モデルを作製し、血管に付着する軟部組織の量、即ち血管周囲組織の量を変化させ、また血管束先端の結紮を加えた

群と加えない群とを作製し、血管周囲組織の有無と先端結紮の有無の影響を形態学的に検討した。一方、血管周囲組織の血流を生理学的手法にて直接的に測定した。

材料および方法

I. 実験材料と手術法

体重3~4 kg の成熟家兎の伏在動静脈を実験対象とした¹²⁾。伏在動静脈は大腿内側部の皮下に出現した部位より外側伏在静脈の吻合枝と交通するまでの長さ3~4 cm の部分を用い、伏在動脈に伴走する2本の伏在静脈を同時に血管束として用いた (図1, 2)。

手術は全身麻酔下に、手術用顕微鏡を使用し、可及的愛護的な操作で行った。

II. 実験群の作製

血管束作製における血管周囲組織の重要性と先端結紮の影響を検討するため以下の5群を作製した。

1. 結紮群

伏在動静脈を末梢部で結紮し、その血管周囲組織である腱膜、脂肪組織と伏在神経を最低幅3~5 mm 付着させた。すべての群の移植母床は伏在動静脈血管束直下に存在する半膜様筋の筋腹上とした (図3 A)。



Fig. 6. Microangiogram of normal saphenous vascular bundle and neighbouring fascias. There are some capillaries on the fascia but the perivascular tissue of the vascular bundle has few capillary.

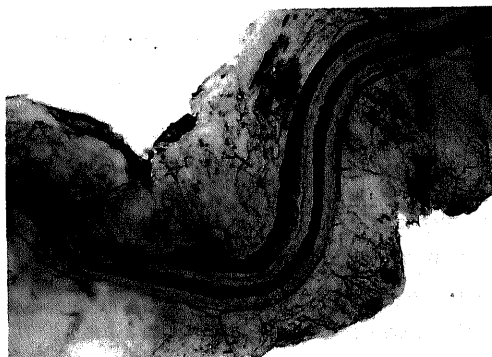


Fig. 7. Microangiogram of the ligated group at 3 days after operation. The perivascular tissue has many capillaries, which are irregular in shape with several leakage sites of Indian ink.



Fig. 8. Microangiogram of the ligated group at 2 weeks after operation. There are several foci of a marked increase of the capillary vascularity. These capillaries are running in random directions and connecting each other.

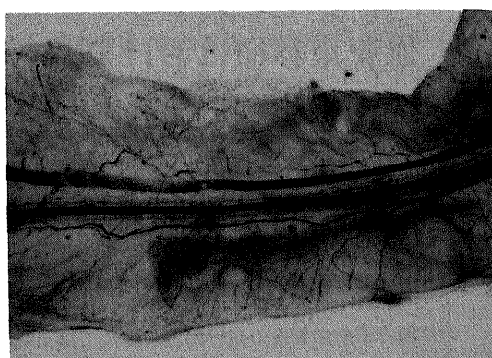


Fig. 9. Microangiogram of the ligated group at 6 weeks after operation. There are a few capillaries.



Fig. 10. Microangiogram of the ligated and denuded group at 2 weeks after operation. Although there are some capillaries, no massive generation of new-formed capillary is found. Arrows show that stem saphenous artery is interrupted by intraluminal thrombi at several sites.

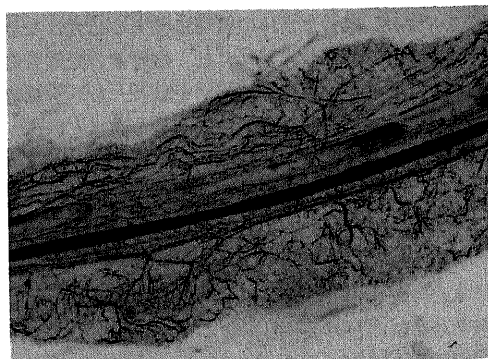


Fig. 11. Microangiograms of the non-ligated group at 3 days after operation. The perivascular tissue has numerous fine capillaries, and no leakage of Indian ink is found.



Fig. 12. Microangiogram of the non-ligated group at one week after operation. A large number of capillaries of the perivascular tissue are visible clearly. Arrows show the site of newly-formed capillaries.

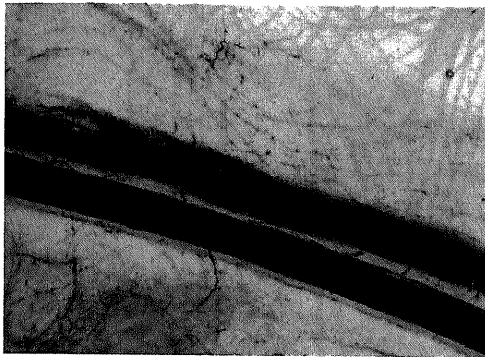


Fig. 13. Microangiogram of the non-ligated group at 6 weeks after operation. A few capillaries are seen.

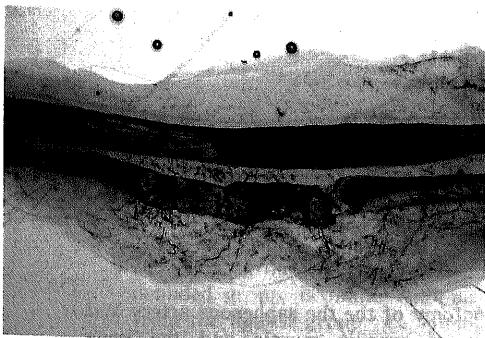


Fig. 14. Microangiogram of the non-ligated and denuded group at 2 weeks after operation. Some capillaries are seen without a massive generation of the newly-formed capillaries.

2. 周囲組織切除結紮群

結紮群の伏在動静脈血管を残し、腱膜、脂肪組織、伏在神経等の血管周囲組織を可及的に除去した (図 3 B).

3. 剝離群

伏在動静脈を結紮せず、伏在動静脈の血管周囲組織を温存して、全周での剝離操作のみを加えた (図 3 C).

4. 周囲組織切除剝離群

剝離群の血管周囲組織を可及的に切除した (図 3 D).

5. 周囲組織単独群

血管周囲組織を温存して血管束を起こした後、さらに血管束の中枢部で伏在動静脈本幹のみを結紮切離した (図 3 E).

III. 実験方法

1. 微小血管造影法

正常家兎および実験群の 3 日, 1 週, 2 週, 3 週,



Fig. 1. Macroscopic anatomy of the saphenous artery and vein of white Japanese rabbit. Skin and subcutaneous tissue are incised. The saphenous vessels are seen between the fascia of gracilis muscle and the knee retinaculum (arrow).

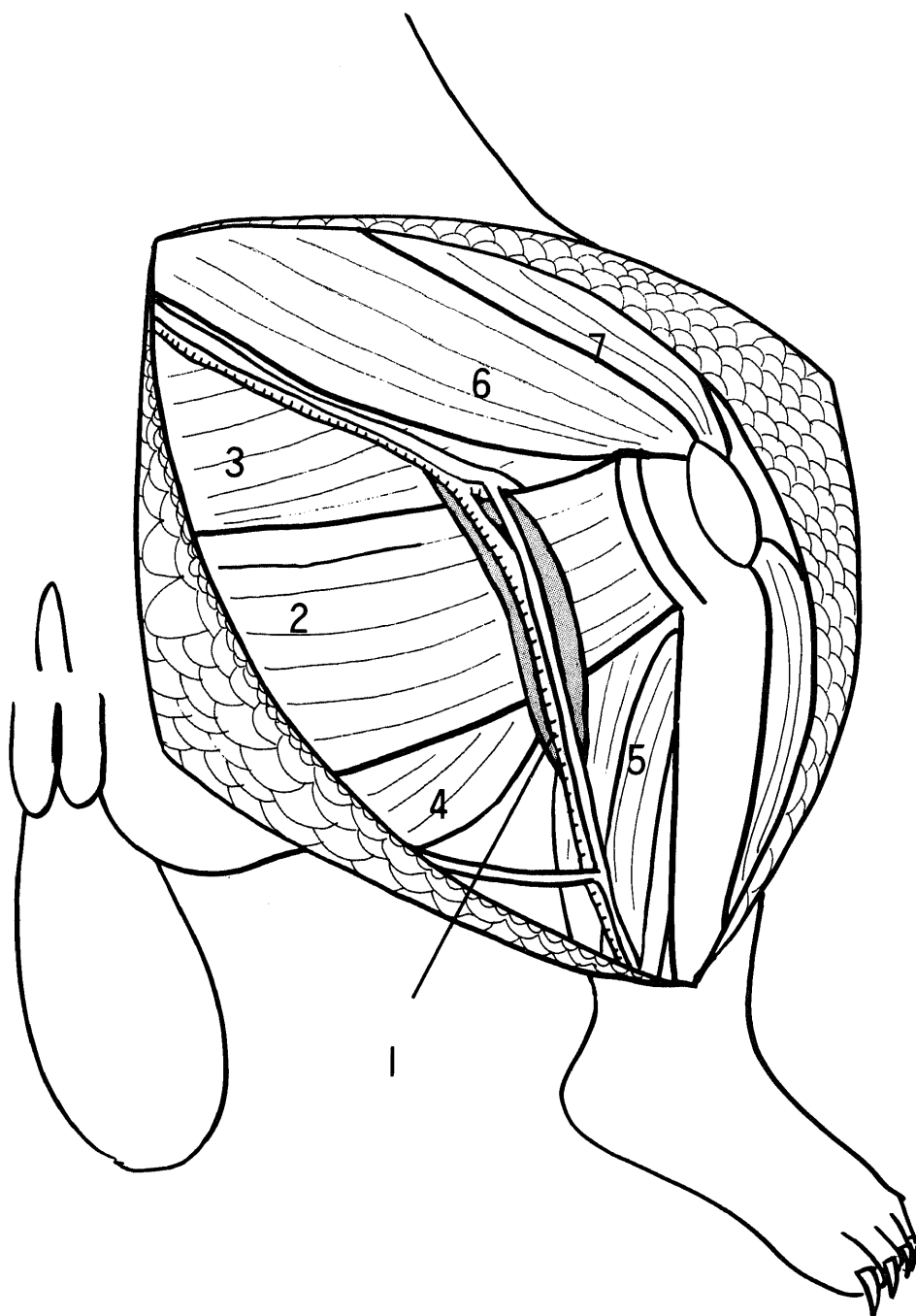


Fig. 2. Schematic illustration of macroscopic anatomy of the the saphenous artery and vein of white Japanese rabbit. The fascia of gracilis muscle and the knee retinaculum are widely resected. (1), saphenous vessels with some surrounding perivascular tissue; (2), semimembranous muscle; (3), adductor muscle; (4), semitendinosus muscle; (5), gastrocnemius muscle; (6), vastus medialis muscle; (7), rectus femoris muscle.

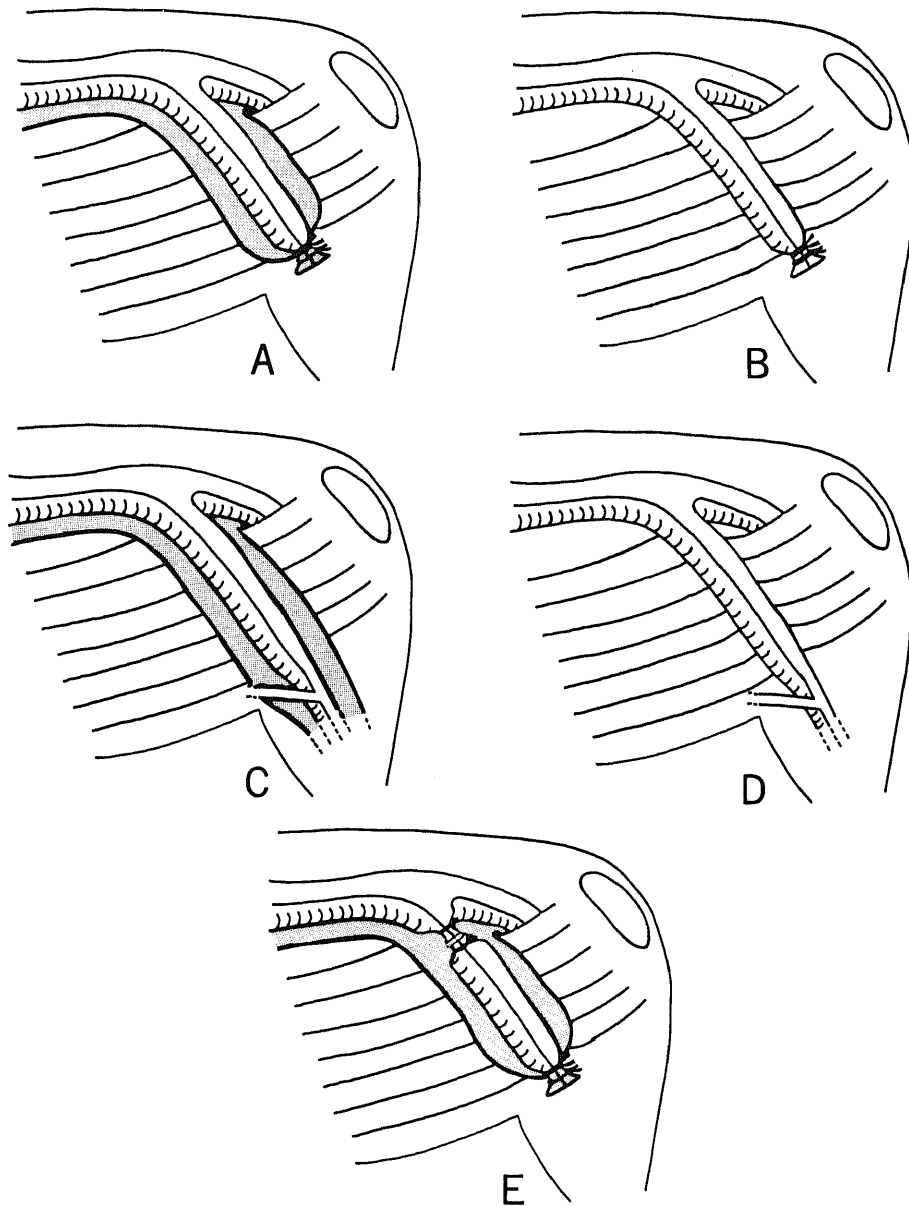


Fig. 3. Schematic illustration of the experimental groups. In all groups, the vascular bundle is transplanted onto the normal semimembranous muscle. Areas of transverse line in the figure represent semimembranous muscle. A, ligated group, is made with the ligation and cutting at the distal end of the vascular bundles, together with the perivascular tissue. This group is made as a typical group for the vascular bundle transplantation. B, ligated and denuded group, is made with an atraumatic resection of perivascular tissue from the ligated group. C, non-ligated group, is made without the ligation and cutting of the vascular bundle with perivascular tissue. D, non-ligated and denuded group, is made with an atraumatic resection of perivascular tissue from the non-ligated group. E, proximally ligated group, is made with the proximal ligation and cutting of stem artery and vein added to the ligated group. In this group, only the perivascular tissue is continued.

4週、6週目に田中らの方法に準じて¹³⁾動物実験用墨汁(カイメイ社、東京)を使用した微小血管造影を施行した。

全身麻酔下に、頸静脈よりヘパリン加生理的食塩水500mlを50cm水柱の静水圧にて全身灌流と脱血を施行し、次いで開胸し上半身を離断後、胸部大動脈よりヘパリン加生理的食塩水500mlにて100cm水柱の静水圧にて下半身のみ灌流した。引き続いて、手術創を開き血管束とその母床を十分ふくめて図4のごとく切離を行い、母床および血管束が血管束からの血行のみで灌流され正常筋肉組織からの血流は遮断されるようにした。この状況下で、20%墨汁入り生理的食塩水200ml、次いで10%ホルマリン加20%墨汁入り生理的食塩水100mlを胸部大動脈より用手的に注入した。注入圧は100cm水柱とした。

試料採取後、10%ホルマリンにて固定し、エタノール脱水後、緒方の方法に準じて¹⁴⁾ツェーデル油に浸し透徹標本とし、透過光の実体顕微鏡で観察した。

2. 組織学的検索法

微小血管造影観察の後の正常家兎および実験群の各試料より組織標本を作成した。すなわち、血管束の近位、中央、遠位の3箇所を横断標本を作成し、これらの組織片は6~8μの厚さにて薄切し、染色はヘマトキシリン・エオジン染色に過マンガン酸カリウム・

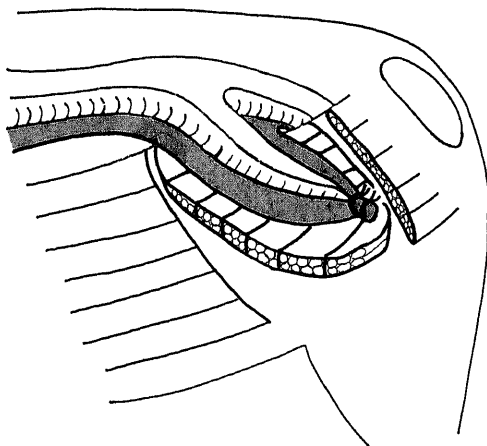


Fig. 4. Schematic illustration for microangiogram. This is a schema of the ligated group for an example. The vascular bundle with perivascular tissue and some of its bed, neighbouring semimembranous muscle, are elevated with incisions of semimembranous muscle. With this treatment, the blood flow from the muscle to the vascular bundle is cut.

レゾルシン・フクシン法による弾性線維染色¹⁵⁾を併用した三重染色を行った¹⁶⁾。

3. 組織血流測定法

Aukland ら¹⁷⁾ならびに緒方の方法に準じて¹⁸⁾吸入式水素クリアランス法にて組織の血流を測定した。血管束内に血管周囲組織を有する結紮群、剥離群、周囲組織単独群と対照群としての末処置の伏在動静脈の各血管周囲組織で、いずれも手術直後に計測したが、結紮群と剥離群に関しては術後2週目にも計測した。まず対照群、次いで剥離群もしくは結紮群、最後に周囲組織単独群を作製しそのつど血流を測定した。

気管内挿管後、笑気、酸素とフローセンにて全身麻酔を行い、血圧を一定に保った。呼吸は自発呼吸とした。測定部位は血管束のほぼ中央で血管本幹より2~3mm離れた血管周囲組織とした。ここに水素クリアランス用の単極白金電極(直径0.3mm、先端1mm白金黒処理、ユニークメディカル社、東京)を刺入し測定した。さらに不関電極用の皿電極を約5cm離れた皮下に設置した。

測定装置は電気分解式組織血流計(バイオメディカル社、金沢)を用いた。記録計の背景電位が安定した後、気管内チューブの基部より水素ガスを吸入させた。電位が十分高くなった時点で水素ガスの吸入を停止し、水素ガスのクリアランス曲線を記録した。これを片対数グラフに記入し半減期Tを求めた。血流量Fは以下の式で求めた¹⁷⁾¹⁸⁾。

$$F = 69.3 \lambda / T \quad (\text{ml/min/100g})$$

ただし、 λ は組織-血液間の平均分配係数で、脳や筋肉などの軟部組織の測定値である $\lambda = 1$ の値を用いた¹⁷⁾。

4. 統計学的検定

各々の群にて血流値の平均と標準偏差を求め、群間の平均値の差をStudentのt検定、または一元配置分散分析後Schefféの多重比較法で、 $p < 0.05$ もしくは $p < 0.01$ を有意として検定した。

成 績

1. 正常伏在動静脈の組織解剖学的所見

伏在動静脈や多数の細小動静脈、伏在神経は脂肪組織および疎性結合組織に包みこまれて存在し、その脂肪組織は線維膜で被覆されている。表層の線維膜は薄い、底部の線維膜は厚く腱膜もしくは筋膜といってもよく、両者は前部、後部で合流し前方では膝蓋支帯に移行し、後方では薄筋の筋膜に移行している。したがって、伏在動静脈血管束の横断面では線維膜で境界された一種のコンパートメントの内部に伏在動静脈血

管本幹とその血管周囲組織（その主体は脂肪組織）が存在している（図 5AB）。

II. 微小血管造影所見

1. 正常伏在動静脈の微小血管造影所見

正常像では、伏在動静脈が良好に造影されていた。その周囲組織の微細血管は淡く造影され、密度は疎であった（図 6）。

2. 結紮群

1) 伏在動静脈本幹の所見

術後 3 日目から術後 6 週目までのいずれの時期においても伏在動静脈本幹は墨汁がよく充満し良好に造影され、閉塞性血栓の形成は見られなかった（図 7, 8, 9）。

2) 血管周囲組織の所見

術後 3 日目には正常時には見られなかった周囲組織内に不整な微細血管が多数造影され、一部束周辺で墨

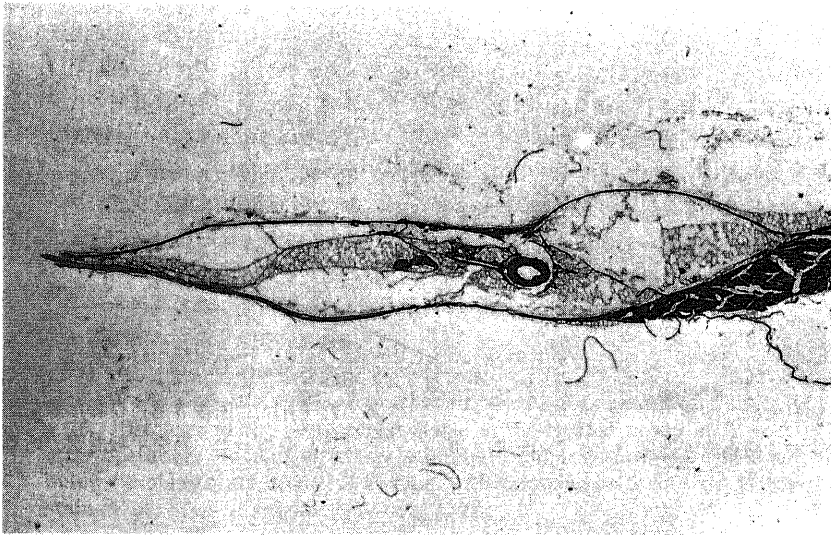


Fig. 5-A. Transverse section of a normal saphenous vascular bundle. Haematoxyline-eosin stain with permanganate-resorcin-fuchsin stain. $\times 2.5$.

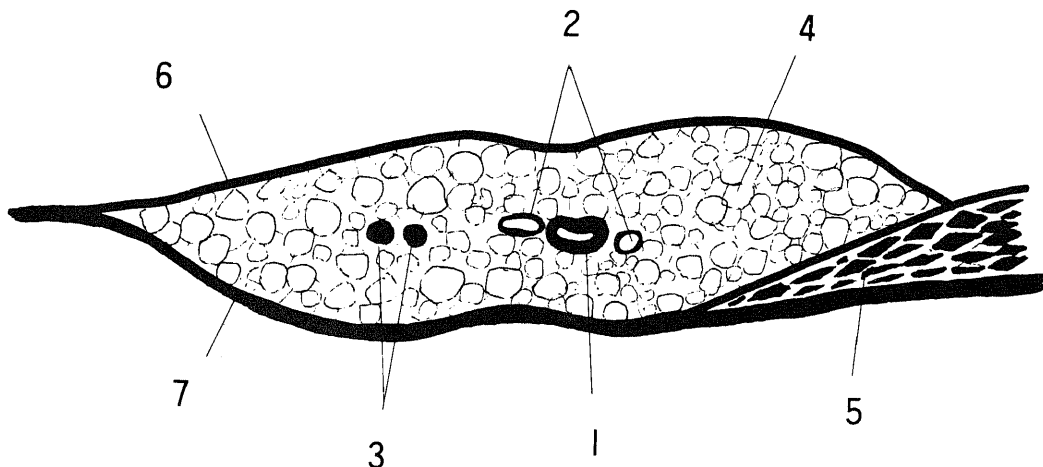


Fig. 5-B. Schematic illustration of figure 5-A. (1), saphenous artery; (2), saphenous vein; (3), saphenous nerve; (4), adipose tissue; (5), gracilis muscle; (6), thin fascia for the surface of vascular bundle; (7), thick fascia for the base of vascular bundle. These two fascias form a compartment including saphenous vessels, nerve and adipose tissue.

汁が漏出した(図7). 術後1週目には微細血管は不整ではあるが高い密度で造影され, 辺縁部には新生微細血管の増生の開始を示す小斑点状に濃く造影された部分が存在した. 術後2週目にはその状態は最高に達した(図8). しかし, 術後3週目以降は次第に微細血管の密度は減少し, 術後6週目には正常像と同程度となった(図9).

3. 周囲組織切除結紮群

1) 伏在動静脈本幹の所見

術後3日目から術後2週目にかけて伏在動脈のみが造影され, かつ中央から末梢にかけて著明な拡大とその遠位部の断裂像を呈し, 血栓形成と判断された(図10). 伏在静脈はほとんど造影されなかった. 術後3週目以降は伏在動静脈いずれも造影は不良であった.

2) 血管周囲組織の所見

血管束本幹周囲には術後3日目よりわずかに切除を免れた組織に微細血管を認め, 一部墨汁の漏出像も存在したが, 術後1週間目以降は疎な微細血管を少量認めたのみであった(図10). 束周辺に新生毛細血管の出現は認めなかった.

4. 剥離群

1) 伏在動静脈本幹の所見

伏在動静脈本幹は微小血管造影ですべての時期で良好に造影された(図11).

2) 血管周囲組織の所見

術後3日目には血管周囲組織の脂肪組織内の存在する微細血管網や伏在神経に伴走する数条の微細血管が均一に淡く造影された. この所見は正常例では認められず, 剥離により周囲組織内の微細血管が強調されて造影されたものである. 結紮群や周囲組織切除結紮群で認められた墨汁の漏出像はなかった(図11).

術後1週目にも微細血管は術後3日目と同様であるが, その辺縁では微細血管増生の開始を示す小斑点上に濃く造影された部分が存在した(図12).

術後2週目には束周辺に微細血管の旺盛な新生像を呈した. しかし, 術後3から6週目にかけて微細血管は徐々に疎となり, 術後6週目には対象群と同程度淡く造影されるようになった(図13).

5. 周囲組織切除剥離群

1) 伏在動静脈本幹の所見

伏在動静脈本幹は微小血管造影ですべての時期で良好に造影された.

2) 血管周囲組織の所見

術後3日目から術後2週目には切除を免れた血管周囲組織に微細血管がごくわずかに造影されるのみであった(図14). 術後3週目以降は微細血管の造影はさらに乏しくなった. 新生毛細血管の所見は認めなかった.

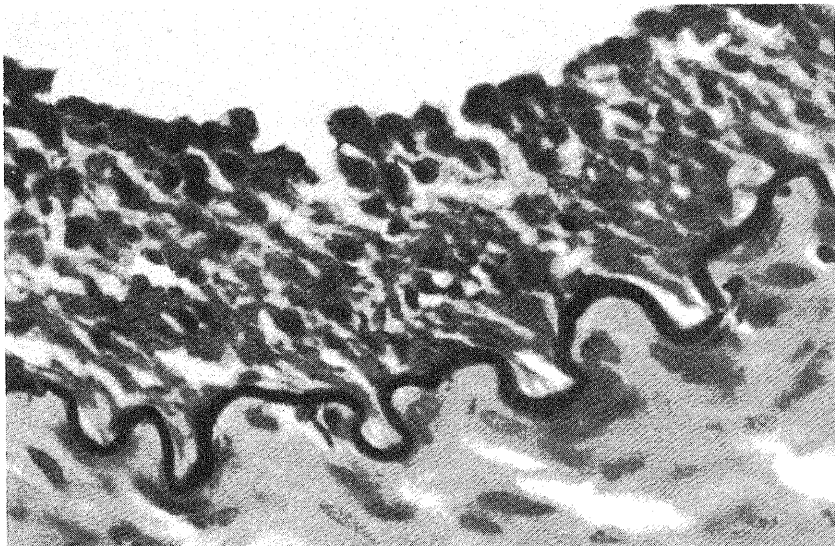


Fig. 15. Histology of the intima of saphenous artery of the ligated group at one week after operation. There are several layers of intimal cells, showing an intimal thickening. H-E stain with permanganate-resorcin-fuchsin stain. $\times 400$.

6. 周囲組織単独群

1) 伏在動静脈本幹の所見

術後3日目から術後3週目にかけて伏在動脈は血栓形成を認めて拡張するのみで、墨汁には造影されず、

伏在静脈のみ造影された。術後4週目以降も伏在静脈のみが不整に造影されるのみであった。

2) 血管周囲組織の所見

術後3日目からの術後3週目には微細血管像はわず

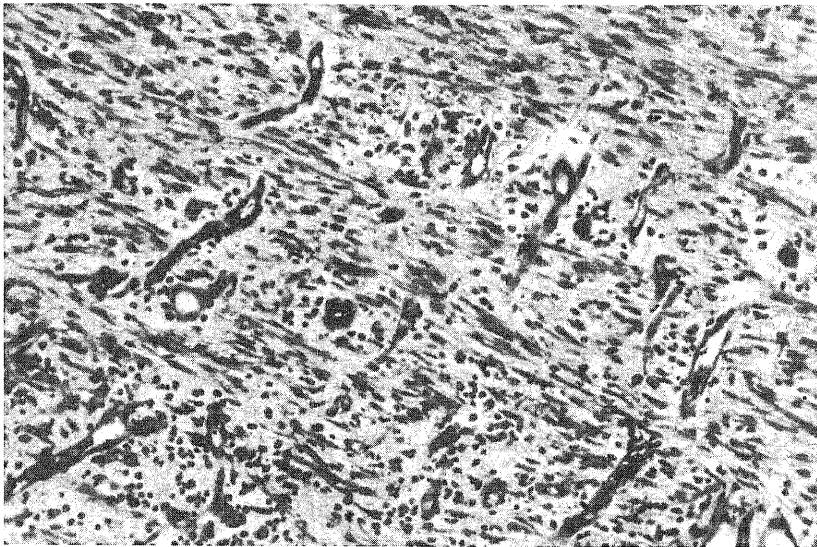


Fig. 16. Histology of the perivascular tissue of the ligated group at 2 weeks after operation. A number of newly-formed capillaries forming canals and many fibroblasts are seen. H-E stain with permanganate-resorcin-fuchsin stain. $\times 100$.

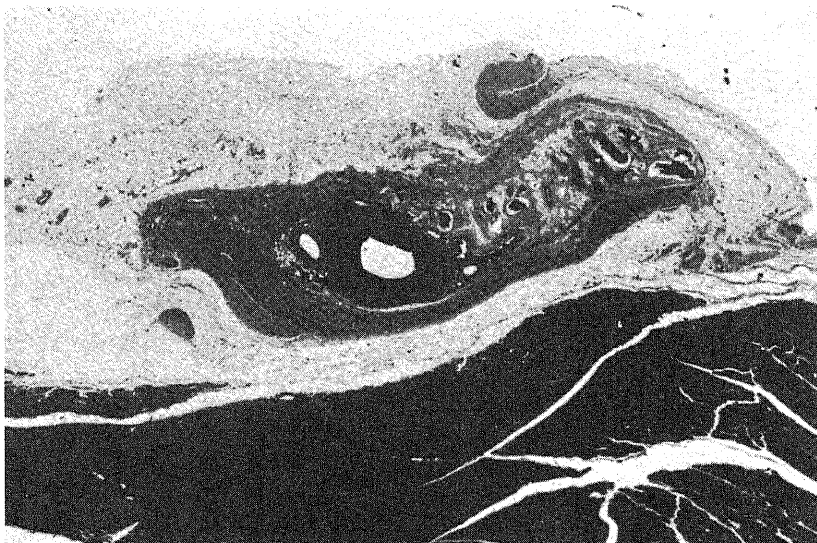


Fig. 17. Histology of transverse section of the ligated group. The muscle as a graft bed has no remarkable change. There is loose connective tissue between the vascular bundle and the muscle. H-E stain with permanganate-resorcin-fuchsin stain. $\times 2.5$.

かに認めるのみであった。術後4週目以降は墨汁が束辺縁に斑紋状に多数認めた。新生毛細血管の所見は認めなかった。

III. 組織学的所見

1. 結紮群

1) 伏在動静脈本幹の所見

術後3日目には伏在動脈の内皮細胞がわずかに増生するのみだったが、術後1週目には内膜が肥厚し、4ないし6層の内膜細胞の増殖を認めた(図15)。この内膜細胞は術後2ないし3週目には扁平化および層の減少を認め、術後6週目では内膜細胞の増殖所見は消失した。伏在静脈には変化を認めなかった。全経過を通じて閉塞性血栓の形成例はなかった。

2) 血管周囲組織の所見

術後3日には多核白血球を主体とする細胞浸潤、フィブリンの析出と毛細血管の拡張像を認めた。術後1週目には細胞浸潤は小円形細胞が主体でより高度となり、術後1週目から2週目にかけて血管周囲組織の外周には線維芽細胞と拡張した内腔をもつ毛細血管内皮細胞からなる新生肉芽組織が出現した(図16)。術後2週目より血管周囲組織の炎症細胞数は減少し、線維化が出現した。同時に、外周の肉芽組織にも線維化が進行した。しかし、術後4週目以降、血管周囲組織の線維化領域の範囲は減少し始め、術後6週目には線維化は消失した。また、外周の線維性組織も正常と同様

の疎性結合組織に置換された。

3) 母床との接合の所見

術後2週目までは移植血管束と母床の半膜様筋は容易に分離が可能で、母床の半膜様筋筋腹上には細胞浸潤を軽度認めるのみで、半膜様筋組織には変化を認めなかった。術後3週目以降は疎性結合組織にて血管束と母床は結合していた(図17)。

2. 周囲組織切除結紮群

1) 伏在動静脈本幹の所見

伏在動脈は術後3日目には中央から遠位部の切片では拡張と鬱血像が認められ、術後1週目から2週目には閉塞性血栓が認められた。術後3、4週目では内膜細胞の増殖を認め始め、術後6週目には線維性肥厚が著明で、管腔は著明に狭小化した。この時期にも閉塞性血栓が散見され、全経過を通じた閉塞性血栓の発生率は22%だった。

2) 血管周囲組織の所見

術後3日目には切除を免れ、血管束本幹に付着した極少量の血管周囲組織に細胞浸潤と毛細血管拡張を認めたが、以後血管周囲組織には線維化を認めたのみで、肉芽組織の新生と退縮の所見は著明でなかった。

3. 剥離群

1) 伏在動静脈本幹の所見

伏在動脈は術後3日目、1週目に内皮細胞の軽度の増殖を認めた以外正常であり、全経過を通じて閉塞性

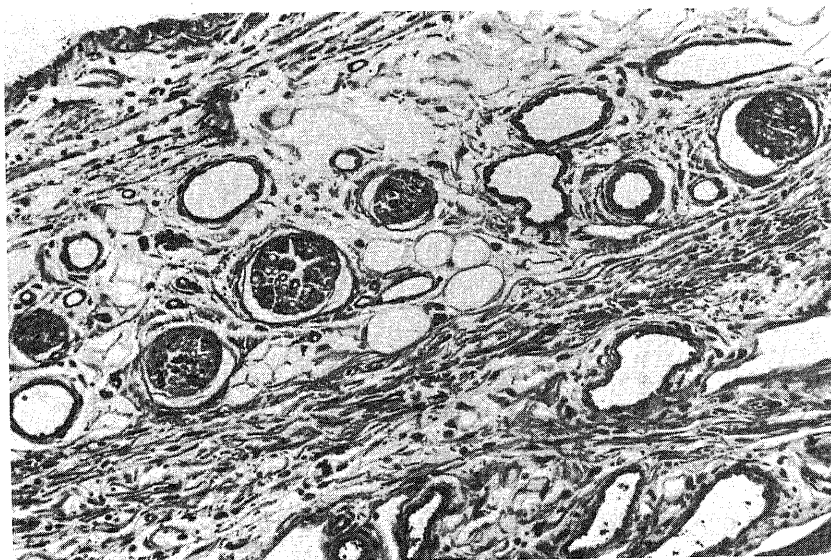


Fig. 18. Histology of the perivascular tissue of the non-ligated group at 3 days after operation. There are many dilated capillaries. H-E stain with permanganate-resorcin-fuchsin stain. $\times 100$.

血栓例はなかった。

2) 血管周囲組織の所見

術後3日目には多数の毛細血管や小動静脈の拡張像を認めた(図18)。術後1, 2週目には細胞浸潤が著明となり、血管周囲組織の外周には線維芽細胞と毛細血管内皮細胞からなる肉芽組織が形成され、毛細血管は拡張した。術後2週目の肉芽組織の範囲が最大であったが、線維化もこの時期に形成され始めた。術後3週目以降、血管周囲組織の細胞浸潤、毛細血管の拡張は軽減し、線維化も減少し、術後6週目には肉芽組織は退縮し、ごく一部に線維化を残す以外は正常であった。

4. 周囲組織切除剥離群

1) 伏在動静脈本幹の所見

剥離群と同様、伏在動脈は術後3日目、1週目に内皮細胞の軽度の増殖を認めた以外正常で、全経過を通じて閉塞性血栓の形成例はなかった。

2) 血管周囲組織の所見

周囲組織切除結紮群と同様、術後3日目には極少量の血管周囲組織に細胞浸潤と毛細血管の拡張を認めたが、以後周囲組織には線維化を認めたのみで、肉芽組織の新生は明らかでなかった。

5. 周囲組織単独群

1) 伏在動静脈本幹の所見

術後3日目の伏在動脈は内腔が狭小化し虚脱した部位と内腔の拡張した部位が混在し、中膜平滑筋細胞の核の染色性不良であった。伏在静脈は著明な鬱血を呈した。術後3～6週目の伏在動脈の内腔は著明に狭小化した。全経過を通じて閉塞性血栓形成率は50%であった。

2) 血管周囲組織の所見

術後3日目の血管周囲組織には著明な浮腫と多数の出血巣、さらに好中球を主体とする高度な細胞浸潤を認めた。同時にこの部の伏在神経や一部存在する薄筋の筋細胞は空胞変性を呈し、出血性梗塞の組織像を示していた(図19)。術後2週目以降、血管周囲組織は高度の線維化に陥った。

IV. 血管周囲組織の血流測定

図20に示すように吸入式水素クリアランス法による伏在動静脈血管束の周囲組織の平均血液量は対照群にて $71.5 \pm 16.2 \text{ ml/min/100g}$ 、術直後の結紮群にて $40.1 \pm 16.8 \text{ ml/min/100g}$ 、剥離群 $72.1 \pm 21.4 \text{ ml/min/100g}$ であった。周囲組織単独群は水素ガスが測定部位まで十分拡散せず測定不能であった。一元配置分散

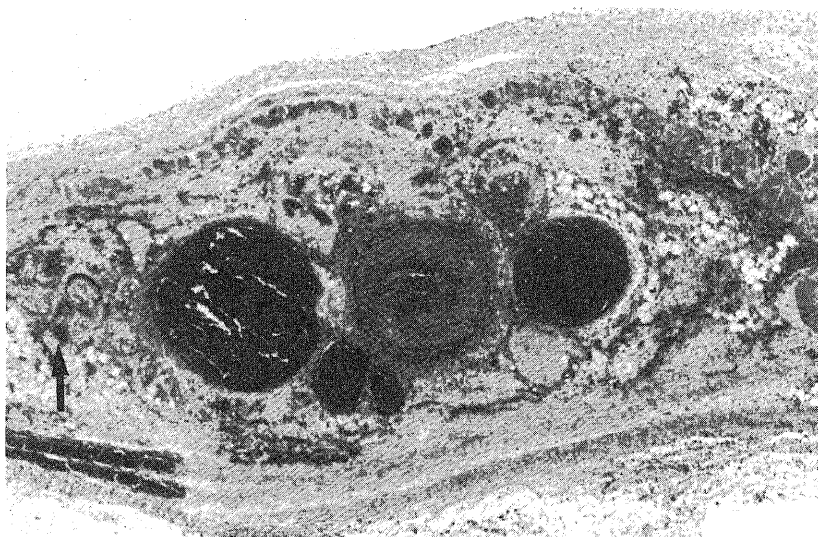


Fig. 19. Histology of the vascular bundle of the proximally ligated group at 3 days after operation. Saphenous artery collapses with a narrow lumen, and saphenous veins dilate remarkably and are filled with blood. Saphenous nerves exhibit vacuolar degeneration (arrows) and there are numerous interstitial hemorrhage. H-E stain with permanganate-resorcin-fuchsine stain. $\times 64$.

分析法 Scheffé の多重比較検定によれば危険率 1% 未満で結紮群は剝離群と対照群より血流が低下していると判定された。しかし、剝離群と対照群との間には有意差は認められなかった。

同一個体で対照群、剝離群、結紮群さらに周囲組織単独群と血流測定を連続して行った所、結紮群までは正常に水素クリアランス曲線が捕らえられ血流は存在したが、最後の周囲組織単独群では吸入した水素ガスが捕らえられず血流は消失していた。続いて、近位血管束の血管クリップを開放し周囲組織単独群の状況を結紮群の状況に戻すと、水素クリアランス曲線が再び捕らえられ血流は回復した (図21)。

また、術後 2 週目の血管周囲組織の血流量は結紮群で $25.3 \pm 15.8 \text{ ml/min/100g}$ 、剝離群では $50.1 \pm 22.4 \text{ ml/min/100g}$ と減少した。いずれも危険率 5% で有

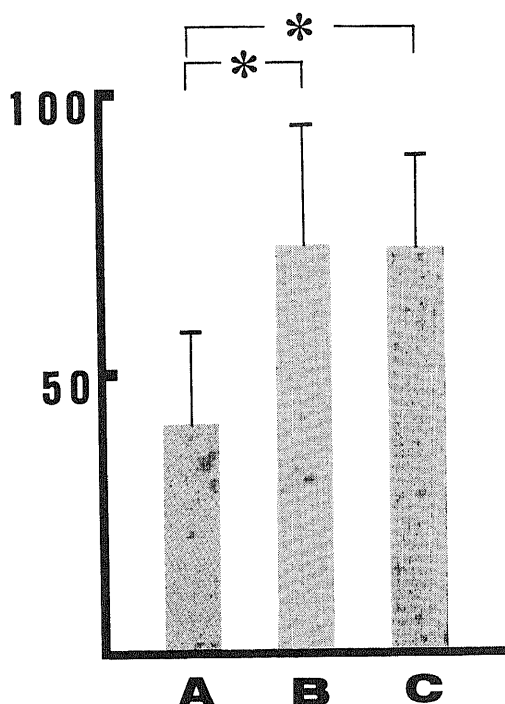


Fig. 20. Blood flows of the perivascular tissue of vascular bundle just after operation. The data are measured by inhaled hydrogen washout technique. The abscissa shows experimental groups; A, ligated group ($n=24$); B, non-ligated group ($n=19$); C, untreated control ($n=16$). The ordinate shows blood flows (mean \pm SD) of each group and its dimension is ml/min/100g tissue. * $p < 0.01$ by ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison.

意の血流減少を認めた (図22)。

考 察

Vineberg¹⁾ が内胸動脈を心筋内へ移植したのを もって嚆矢とする血管移植は当初は主要動脈のみを移植する動脈移植であったが^{1)-5), 8), 10)}, 23~50%の例で血栓形成を認めた^{23), 10)}。以来、互いに伴走する動静脈を対とした血管束を用いた血管束移植術として利用されるのが一般的となり、しかも簡便な動静脈の先端結紮が汎用されるようになった^{5), 6), 7), 9), 11)}。

この血管束移植術は図23のように模式化することができる。血管束の先端部は目的とする乏血組織内に移植されるが、それに至るまでのいわば血管束柄部ともいべき部分が存在する。従来の研究は目的組織である乏血組織への血管束移植術の検討、即ち血管束先端部の検討が主であったが、血管束柄部は先端部の機能を保障するためにも当然主要動脈の開存性の維持は必要であり、その検討は先端部と劣らず重要といえるが、従来この点を検討した報告はない。

動静脈は本来末梢組織に分布し、そこにある毛細血管網を通じて循環が行われるもので、動静脈本幹を結紮すると動脈血流の停止あるいは鬱滞を来とし、静脈は血流量の減少あるいは停止が生ずるはずである。ところが、本実験の結紮群においては本幹を結紮しても動静脈間に良い循環が得られた理由は、図24に示するような動静脈間に連絡枝があるというよりも、付属する周囲組織内の循環系の存在が役立っているといえる。周囲組織を切除した周囲組織切除結紮群では動静脈間に僅かの連絡枝が存在するとはいえ、これだけでは不十分で、開存性が損なわれたことからみて周囲組織内の循環系の必要性がわかる。一方、先端の動静脈を結紮しない剝離群ならびに周囲組織切除剝離群では周囲組織の有無に関係なく、血管本幹の開存性は保たれた。これは動静脈の支配する終末組織での毛細血管網 (図24-3) が存在するため、周囲組織の循環系を利用しなくとも血流が正常に保たれることを示している。また、周囲組織単独群が出血性梗塞に陥った成績から血管周囲組織にある循環系は伏在動静脈本幹により供給されている。以上から、結紮群のように先端結紮法にて血管束を作成した際に血管本幹の開存性を維持するためには、脂肪組織を主体としたコンパートメントを形成する伏在動静脈周囲組織を温存することが必要である。

この点は Sewell¹⁰⁾ が内乳動脈移植において血管束周囲の軟部組織を付着させることが動脈の開存性を高めるとしている成績に通じるが、さらに Sewell

ら¹⁹⁾はまた Shintomi ら²⁰⁾も血管束の動脈の開存性を高めるために終末組織(図24-2,3)を一部付着させることを強調しているが、今回の成績からその必要はなく、血管周囲組織を十分付ければ、先端は結紮操作のみで十分である。

保利²⁰⁾は犬の伏在動静脈血管束において、また Shen²¹⁾が成人の橈骨動静脈間、尺骨動静脈間、前脛骨動静脈間、浅側頭動静脈間において動静脈を繋ぐ微小循環が存在することを造影剤の動脈注入によりレントゲン学的に示した。しかし、これらの研究は動静脈間の繋ぐ微小循環系の存在を示唆したに過ぎず、血管本幹の開存性との関わりを実証してはいない。今回の研究では血管周囲組織を温存した群と切除した群の血管本幹の開存性を比較することにより必要とされる血管周囲組織の範囲を示した。

一方、血管周囲組織自体もしくはその外周に起こる現象に関しては、周囲組織を温存した結紮群と剝離群において既存毛細血管の拡張所見と旺盛な微細血管の増生所見をえたが、周囲組織を切除した周囲組織切除結紮群と周囲組織切除剝離群ではこの微細血管の増生

所見を認めず、血管周囲組織の有無により異なった結果を示した。

この微細血管の増生所見は毛細血管内皮細胞と線維芽細胞の増殖による肉芽組織形成が周囲組織の外周に起こったもので、しかも、術後3週目以降退縮傾向を認めた。これは Algire²²⁾, Schoeffl²³⁾, 大井²⁴⁾, Weilhelm²⁵⁾, 鈴木ら²⁶⁾の記載する創傷治癒機転での毛細血管の増生、肉芽組織の新生と退縮の一連の経過に一致する。したがって、この微小血管造影での微細血管増生所見は創傷治癒機転の所見と考えられる。

今回の成績からこの創傷治癒発現に関しても血管周囲組織の存在は重要と結論される。血管周囲組織の毛細血管の増生は、本研究目的の血管柄部よりも後述するように乏血組織に挿入する血管束先端部における血行改善機能として重要な役割をもっていると考えられる。

次に、血管周囲組織の血流量とその経路について考察する。前述のように今回の実験でまず形態学的に血管周囲組織内の循環の維持と伏在動静脈血管本幹の開存性が密接に関係していることが明らかとなった。し

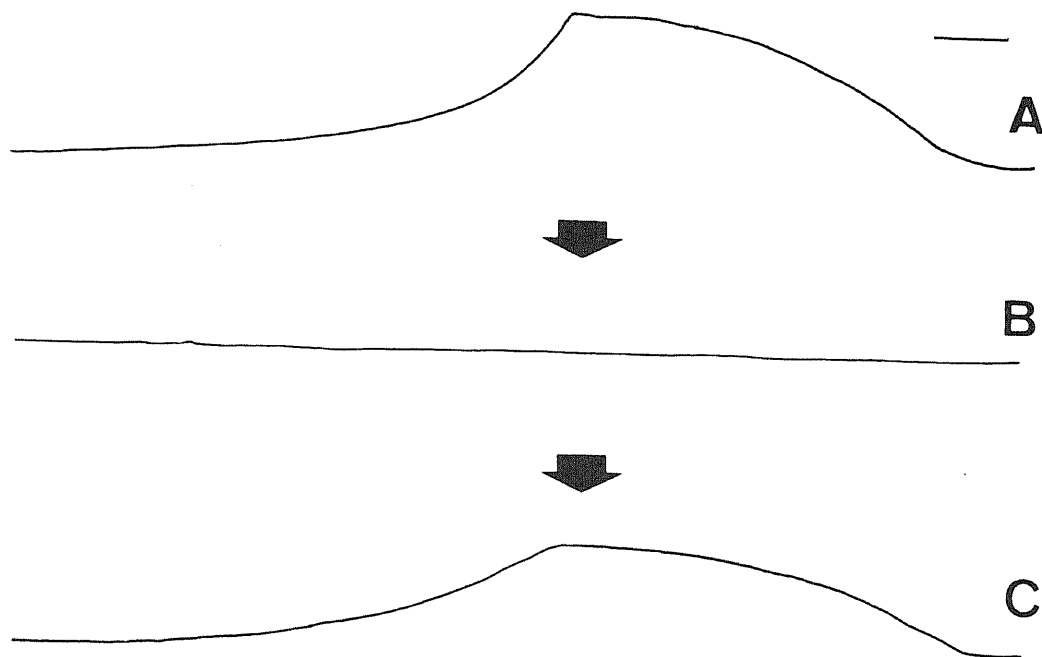


Fig. 21. Three inhaled hydrogen washout curves of a rabbit under three different conditions. Curve (A) is measured in the situation of the ligated group. Then, the proximal part of the saphenous vessels are clipped to make the situation of the proximally ligated group and the curve (B) is measured. At last, the clip is removed to make the situation of the ligated group again and the curve (C) is measured. Horizontal scale show one minute.

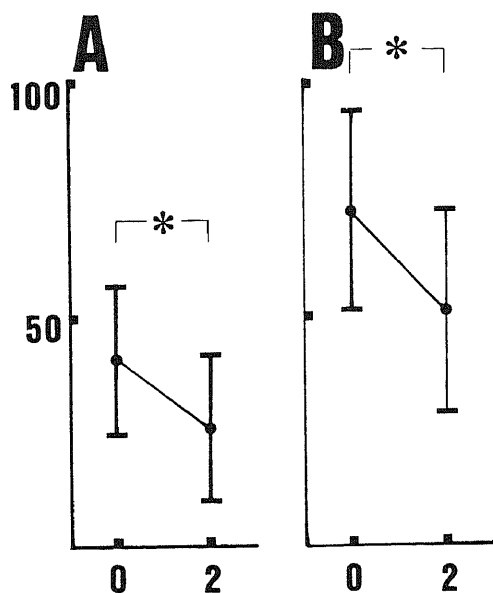


Fig. 22. Periodic changes of the blood flow of perivascular tissue of the ligated group (A) and the non-ligated group (B). The abscissa shows the period after operation; 0, just after operation; 2, 2 weeks after operation. Ordinate shows blood flows (mean \pm SD) of each group. Its dimension is ml/min/100g tissue. * $p < 0.05$ by Student's *t*-test.

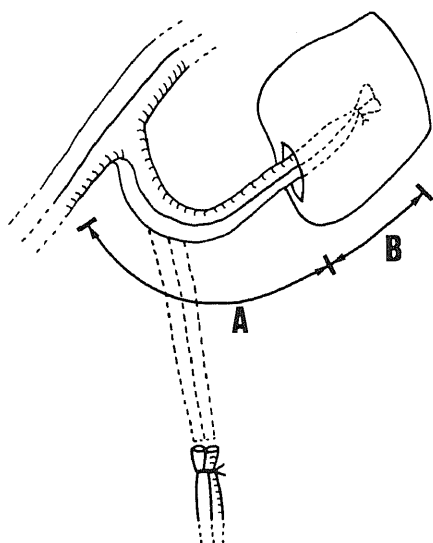


Fig. 23. Schematic illustration of the vascular bundle transplantation; A, pedicle of the vascular bundle which is grafted on or in the normal tissue; B, tip of the vascular bundle which is grafted in the target tissue.

かし、直接的な証明とはいいがたく、さらに吸入式水素クリアランス法による血管周囲組織の血流測定を施行した。その結果、対照群と剥離群では周囲組織の血流に変化がなかった点から、血管周囲組織の循環は専ら血管本幹もしくは血管周囲組織自体の連続性により保たれていることが示唆された。

さらに結紮群と周囲組織単独群との血流測定の結果から、結紮群の血管周囲組織血流は正常より減少を示すのに対して、周囲組織単独群では血流が消失することより、血管周囲組織の血流は血管本幹のみを経由してもたらされ、束付着部における血管周囲組織自体の連続性によつてはもたらされるものではないことがわかった。また、以上の事実により結紮群の血管束においては、血管周囲組織の微小循環系が機能しているこ

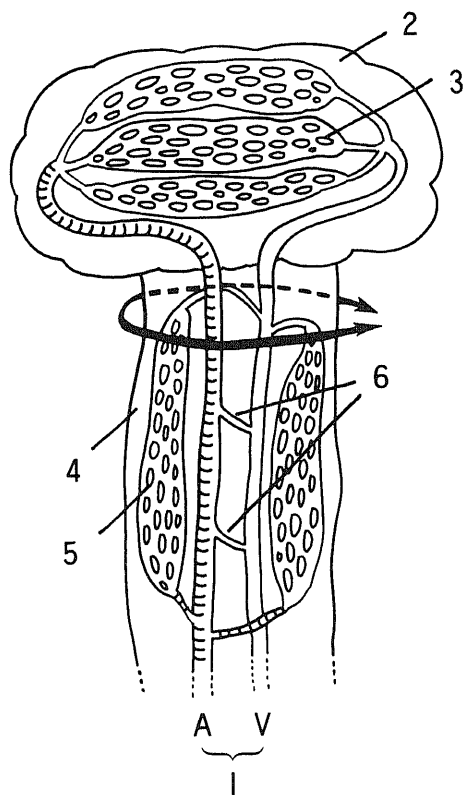


Fig. 24. Schematic illustration of the vascular bundle and its end tissue. (1), a vascular bundle; A, artery, V, vein; (2), end tissue; (3), capillary networks in the end tissue; (4), perivascular tissue of the vascular bundle; (5), capillary network in the perivascular tissue; (6), communicating branches between artery and vein. Arrow shows the site of distal ligation to make a vascular bundle.

とが生理学的に証明され、これにより血管本幹が開存することが明らかとなった。いわば血管束移植術は血管柄付「血管周囲組織」移植術といえる。

一方、結紮群においては対照群、剝離群より有意に血流が低下したが、これは結紮群での血管束先端部での結紮操作により、血流の途絶と同時に伏在動脈内圧の上昇にさらに血管周囲組織の組織内圧の上昇を惹起し、最終的に静脈還流不全を起こして組織血流の減少をきたした可能性がある。これは結紮群の術後3日目の微小血管造影で墨汁漏出などの微小循環系の破綻を示す所見や、剝離群で認めた Algire²⁰⁾, Folkman²¹⁾のいう初期の創傷治癒機転に由来すると判断される良好な毛細血管拡張が、結紮群では比較的抑制された事実より支持された。加えて、結紮群では組織学的に伏在動脈が高血圧状態に陥っている可能性を示す伏在動脈の内膜肥厚を認めた点からも支持される。

また、術後2週目の結紮群と剝離群の血管周囲組織においても有意な血流の低下を認めた。その理由として本実験系では血管本幹より僅か数 mm 離れた部位に測定電極を設置しており、飯島²²⁾も指摘するように血管本幹の血流の影響が想定される。手術直後測定時にはこの影響が大きく、やや血流が大きく測定される可能性があるが、術後2週目では血管周囲組織には細胞浸潤や軽度の線維化など血管周囲組織自体の組

織学的変化をきたすため、測定電極と血管本幹の距離が変化しなくても血管本幹の血流の影響は少なくなり、血管周囲組織の血流が低下すると考えられる。また、手術直後は周囲組織の創面からの出血も血流として捕らえられ血流測定値が大きくなる一因と考えられる。

一方、術後2週目の時期は結紮群、剝離群のいずれにおいても形態学的には旺盛な毛細血管増生を示す時期である。前述のように測定電極を刺入する血管周囲組織自体の組織学的変化の影響はあるものの、両群で組織血流の増加を認めなかった点より、形態学的に毛細血管の増生が存在しても必ずしも血流の増加を意味しているとはいえない。Folkman らは培養系での毛細血管内皮細胞の増殖と管腔形成の事実から毛細血管の新生には血流も血圧も関与しない可能性を示唆している²³⁾。この点は、従来、微小血管造影所見のみで形態的に血行状態を論じてきた方法論に警鐘を発するもので、微小血管造影と血流測定との所見は決して一致しない。

最後に移植血管束と母床との関係について考察する。血管束移植術の場合、図23における血管束先端部と母床との関係を論じた研究はあったが^{11)~11), 19)~21), 30), 31)}、血管束柄部とそれを置く母床との関係を論じた研究はない。神経移植の場合には移植神経が母床より血行を

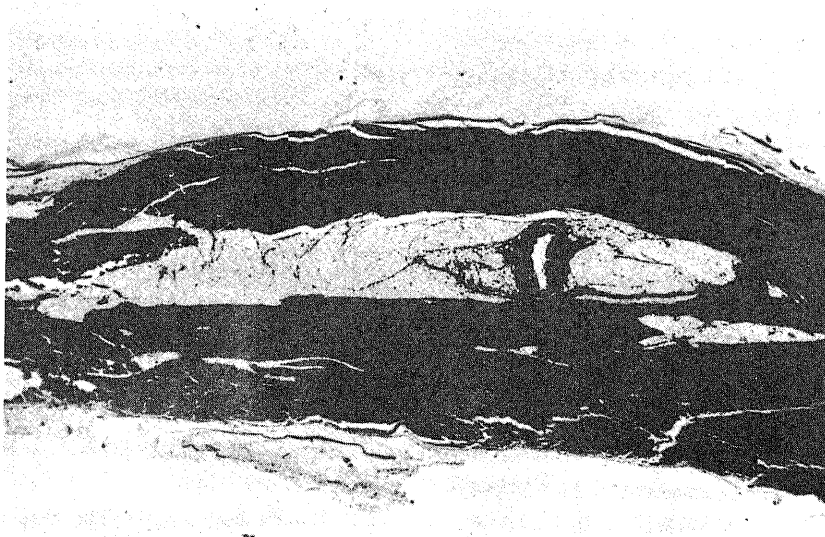


Fig. 25. Histology of the ischemic muscle with the vascular bundle trasplantation at 6 weeks after operation. Transplantated vascular bundle is seen surrounded by infiltrated adipose tissue replacing the necrotic muscle. H-E stain with permanganate-resorcin-fuchsin stain. $\times 2.5$.

得る必要があるため、血行の良好な母床を選ぶ必要がある。しかし、血管束移植術では今回の研究で明らかにように血管周囲組織がある限り、循環がそれ自体に保たれているため、母床の血行には関与しないことが明らかとなった。よって、いかなる組織上あるいは組織内にあっても血管周囲組織が温存してあれば、血管束柄部の開存性は良好であり、母床の状態に影響されないといえる。

臨床的には、整形外科領域での大腿骨頭壊死⁷¹⁾や Kienböck 病⁷²⁻⁷⁴⁾などの壊死骨や心臓外科領域での壊死心筋の血行改善⁷⁵⁾を目的として血管束移植術が行われてきた。これは図23に示す血管束先端部の問題であり、今回の目的、すなわち血管束柄部の研究と異なる。しかし、血管束自体の機能と構造は両者とも同じであるはずで、ただ束の母床が正常組織か乏血組織かの差にすぎない。

今回、本実験の追加として、結紮群の血管束を乏血筋肉内に移植した実験、すなわち母床が乏血筋肉組織である場合を調べた。

術後1週目で血管束には周囲組織内の著明な細胞浸潤があり、壊死筋肉は細片化し、術後3週目以降は前述したような血管周囲組織外周、即ち移植血管束と母床との接合面での毛細血管の増生及び肉芽組織の形成によって血管束に接した壊死筋肉の吸収が起こり、これが脂肪組織に置換される所見がみられた(図25)。

この成績は血管束移植が決して壊死筋肉の再生あるいは血行の改善として働いたものではなく、壊死組織の吸収と脂肪組織の置換が主であり、壊死骨組織での骨の再形成が起こるという金粕³⁰⁾や保利³⁶⁾の実験とは異なった。また金粕³⁰⁾、Shen³¹⁾が指摘したように乏血組織であっても熱変性に陥った母床は血管束移植による血行再建が不良である。同じ乏血組織であっても乏血組織の種類や性状により血管束移植術の効果は異なるもので、すべての壊死あるいは乏血組織に有効ではない。よって、血管束移植術には対象を選ぶ必要がある。

結 論

血管束移植術での血管束作製時における血管束先端結紮の影響と血管周囲組織の血行動態の検討を目的として、白色日本家兔の伏在動静脈を利用した血管束の実験モデルを作製し、先端結紮をした群としない群、血管周囲組織を温存した群と切除した群を組み合わせ、微小血管造影法と組織学的手法による経時的な形態学的検討と、吸入式水素クリアランス法による血管周囲組織の血流測定を施行し以下の結論を得た。

1. 先端を結紮して作製する血管束においては血管周囲組織を温存した群では血管本幹の開存性は保たれるが、血管周囲組織を切除した群では血管本幹の開存性は損なわれる。これは血管周囲組織内の微小循環が動静脈本幹の循環維持に役立っていることを示している。一方、先端を結紮していない場合は血管周囲組織の有無に関係なく血管本幹の開存性は良好である。

2. 先端を結紮した血管束の血管周囲組織の作製直後の組織血流は、正常より有意に低下はするものの約56% (平均40.1ml/min/100g)の血流が存在し、これは血管本幹経由にて循環していることが証明された。

3. 血管束作製後2週目、形態学的には血管周囲組織の外周に旺盛な毛細血管の増殖を認めるが、血管周囲組織の組織血流は軽度の減少を示し、形態学上の毛細血管の増殖は血流測定上の血流の増加を意味しない。

4. 血管束作製後2週目にみられる毛細血管の増殖は創傷治癒現象として生じるもので、これが乏血組織の血流改善という血管束移植の本来の目的に役立つものと考えられる。この毛細血管増殖は血管周囲組織を温存した群に良好に形成される。

以上より、血管束作製にあたっては、血管周囲組織の十分な温存が血管本幹の開存のみならず、血管束外周での毛細血管の増殖においてもきわめて重要である。

謝 辞

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました恩師野村 進教授に衷心より深甚なる謝意を表します。さらに、御指導、御助言賜りました福井医科大学整形外科吉村光生助教授に深謝の意を表します。また、組織血流の測定に関して御指導いただきました松本忠美講師並びに形態学的研究に関して御指導いただきました第一病理学講座の河原栄博士に感謝致します。

なお、本論文の要旨は、第13回マイクロサージャリー研究会(1986年、東京)並びに第3回日本整形外科学会基礎学術集会(1988年、東京)において発表した。

文 献

- 1) Vineberg, M.: Development of an anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery. Can. Med. Assoc. J., 55, 117-119 (1946).
- 2) Woodhouse, C. F.: The transplantation of patent arteries to bone. J. Internat. Coll. Surg., 39, 437-446 (1963).
- 3) Dikerson, R. C. & Duthie R. B.: The diversion of arterial blood flow to bone. J. Bone

- Joint Surg. (Am), **45**, 356-364 (1963).
- 4) **Boyd, R. J. & Ault, L. L.**: An experimental study of vascular implantation into the femoral head. Surg. Gynecol. Obstet., 1009-1014 (1965).
- 5) **保利喜英, 増原建二, 玉井 進, 奥田寿夫, 坂本博志, 田北武彦**: 骨組織への血管移植. 日整外会誌, **52**, 25-44 (1978).
- 6) **Hori, Y., Tamai, S., Okuda, H., Sakamoto, H., Takita, T. & Masuhara, K.**: Blood vessel transplantation to bone. J. Hand Surg., **4**, 23-33 (1979).
- 7) **藤井 淳**: いわゆる特異性大腿骨頭無腐性壊死の血行再建に関する実験的, 臨床的研究. 広島大医誌, **31**, 197-225 (1983).
- 8) **藤田晋也**: 月状骨軟化症に対する血管移植術. 飯野三郎教授業績論文集, 71-72, 東北大学整形外科学教室, 仙台, 1972.
- 9) **毛利知満, 津下健哉, 安達長夫, 渡 捷一, 堀司郎**: Kienböck 病の治療 - 壊死骨の血行再生に関する研究 -. 整形外科, **28**, 1556-1560 (1977).
- 10) **保利喜英, 増原建二, 玉井 進, 奥田寿夫, 坂本博志, 藤原 博, 清水豊信, 福居顕宏**: 手根骨無腐性壊死に対する血管束移植. 整形外科, **33**, 1410-1412 (1982).
- 11) **藤原 博, 保利喜英, 増原建二, 玉井 進, 奥田寿夫, 玉井 昭, 坂本博志, 清水豊信, 上野良三**: 大腿骨頭壊死に対する血管束移植術. 整災外, **25**, 1935-1942 (1982).
- 12) **Barone, R., Pavaux, C., Blin, P. C. & Cuq, P.**: 兎の解剖図譜 (望月公子訳), 第1版, 62-71頁, 学窓社, 東京, 1977.
- 13) **田中弘美, 黒川高秀, 関 寛之**: 微小血管の墨汁および樹脂注入検査法. 整形外科, **31**, 929-934 (1980).
- 14) **緒方知三郎**: 病理組織顕微鏡標本の作り方手ほどき. 第8版, 28-29頁, 南山堂, 東京, 1954.
- 15) **高田多津男**: ワイゲルトの Kruttsay 変法 (月刊 Medical technology 編). 第1版, 29-30頁, 医歯薬出版株式会社, 東京, 1983.
- 16) **青木 望**: 光顕標本における染色法の撰撰. 整災外, **26**, 1247-1250 (1983).
- 17) **Aukland, K., Bower, B. F. & Berliner R. W.**: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. Cir. Res., **14**, 164-187 (1964).
- 18) **緒方公介**: 水素クリアランス法の整形外科領域への応用. 日整外会誌, **55**, 769-777 (1981).
- 19) **Sewell, W. H. & Sealy, W. C.**: Coronary cinearteriography and pedicle operation in diagnosis and treatment of coronary insufficiency. Surg., **55**, 99-105 (1964).
- 20) **Shintomi, Y. & Ohura, T.**: The use of muscle vascularized pedicle flaps. Plast. Reconstr. Surg., **70**, 725-734 (1982).
- 21) **Shen, T.**: Vascular implantation into skin flap: experimental study and clinical application: a preliminary report. Plast. Reconstr. Surg., **68**, 404-409 (1981).
- 22) **Algire, G. H.**: Vascular reaction of normal and malignant tissues in vivo. J. Nat. Cancer. Inst., **6**, 73-85 (1945).
- 23) **Schoefl, G. I.**: Study on Inflammation III. Growing Capillaries: Their Structure and Permeability. Virchows Arch (A). **337**, 97-141 (1963).
- 24) **大井章史**: 創傷治癒における線維芽細胞の超微構造的変化. 十全医会誌, **91**, 923-938 (1982).
- 25) **Wilhelm, D. L.**: Inflammation and healing. In J. M. Kissane (ed.), Anderson's Pathology, 8th ed., p.47-50, The C. V. Mosby company, St. Louis, 1985.
- 26) **鈴木磨郎, 堀 勝義**: 血管内皮細胞と血管増殖. 生体の科学, **36**, 207-210 (1985).
- 27) **Folkman, J.**: Tumor angiogenesis. Adv. Cancer Res., **19**, 331-358 (1974).
- 28) **飯島一彦**: 水素クリアランス法. 循環制御, **7**, 643-651 (1986).
- 29) **Folkman, J. & Haudenschild, C.**: Angiogenesis in vitro, Nature, **288**, 551-556 (1980).
- 30) **金粕浩一**: 遊離骨に対する血管束移植の実験的検討. 十全医会誌, **97**, 652-671 (1988).
- 31) **Shen, T.**: Experimental study of tissue graft vascularization by means of vascular implantation and subcutaneous burying, Plast. Reconstr. Surg., **73**, 403-410 (1984).

The Role of the Perivascular Tissue in Vascular Bundle Transplantation
Kohei Yonezawa, Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., 97, 1147—1164 (1988)

Key words: vascular bundle transplantation, perivascular tissue, circulation, capillary proliferation, wound healing

Abstract

Vascular bundle transplantation has been used to improve the circulation of ischemic tissues. However, the principles for making the vascular bundle have not been established yet and the precise hemodynamics of the vascular bundle has not been well elucidated. The purpose of the present experiments is to study the role of perivascular tissue of the vascular bundles and the effect of ligation at the distal end of the vascular bundles. The patency of a stem artery of the vascular bundle was examined microangiographically and histologically. Several kinds of experimental models were made with saphenous vessels of Japanese white rabbits. The patency of the saphenous artery of the vascular bundle was always maintained in the models of vascular transplant with perivascular soft tissue. The perivascular soft tissue, mainly adipose tissue, seemed to be essential for the patency of the vascular bundle. If the perivascular tissues were preserved, the ligation at the distal end of the vascular bundle did not obstruct the patency of vascular bundle. The second focus of the present study was the blood measurement of the perivascular tissue by inhaled hydrogen washout technique. Even in the experimental group, there was a blood flow of 40.1 ± 16.8 ml/min/100 g in the perivascular tissue of vascular bundle, which corresponded to 56 percent of the normal levels. It was less than that of control blood flow because of the distal ligation of the vascular bundle. The blood flow disappeared after the proximal ligation of saphenous artery. Therefore, the blood flow of the perivascular tissue was carried only through the stem saphenous artery.